

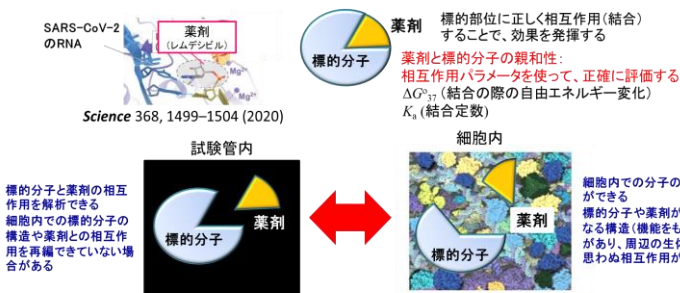


生細胞を使わず、細胞内における標的分子の相互作用を 厳密かつ簡便に再現・評価できる疑似細胞とその使用

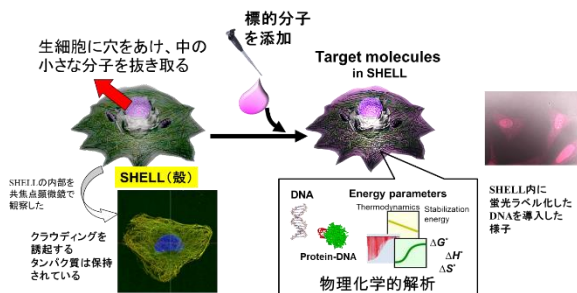
フロンティアサイエンス研究科 准教授 建石 寿枝、准教授 高橋 俊太郎、
フロンティアサイエンス学部 准教授 川内 敬子、特別客員教授 杉本 直己

研究の概要・特徴

細胞内と試験管内の環境の違いが
生体分子の相互作用を大きく変化させる



(本研究) 試験管内で生細胞の環境における
相互作用解析ができる疑似細胞(SHELL)



試験管内で最適化された薬剤でも細胞内では効能を示さない場合がある

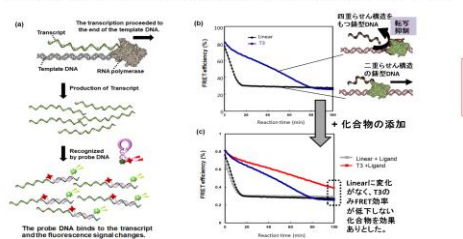
SHELL内に解析したい分子を導入し、細胞内の環境での相互作用を解析

実験環境と細胞内環境の比較

	細胞内	試験管内 (標準光環境)	試験管内 (クラウド環境)	SHELL内 (本研究)
クラウド環境 分子	生細胞の タンパク質など	なし	中性高分子 など	固定化された タンパク質など
細胞内環境を 模倣できるか	Perfect	Poor	In part	Good
細胞内の相互作用を 再現できるか	Perfect	In part	Poor	Good
定量的解析に 適しているか	Poor	Good	Good	Good
簡単に実験できるか	Poor	Good	Good	Good

SHELL用いた実施例

がん遺伝子のG-四重らせん構造を標的とした薬剤のスクリーニング



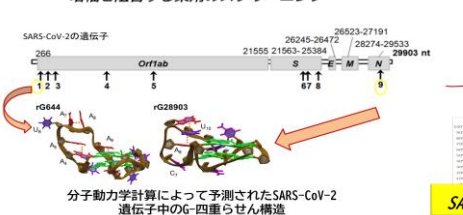
実験環境の違いによる化合物の転写阻害効果の比較

化合物の名前	In vitro (標準環境)	In SHELL (DNA-400-231)	In cell (DNA-400-231)
A	Yes	No	No
B	Yes	Yes	Yes
C	Yes	No	No
D	Yes	No	No
E	Yes	No	No
F	Yes	Yes	Yes
G	Yes	No	No
H	Yes	No	No
I	Yes	No	No
J	Yes	No	No
K	Yes	No	No
L	No	No	No
M	No	No	No
N	No	No	No
O	No	No	No

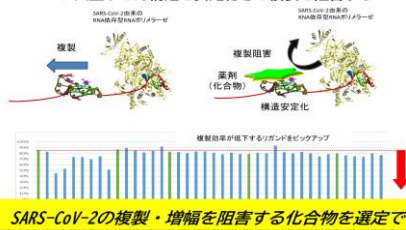
SHELL内で転写阻害効果を示した化合物のみが、細胞内でも
転写を阻害した。
⇒ 細胞内で効果を発揮できる化合物のみを効率よく選定
することができる。

環境の違いが引き起こす問題点
ハイスループットスクリーニング等において、相互作用パラメータによって試験管内で最適化された薬剤が、細胞内では効能を示さないことがある。
→ 細胞内の特殊な環境下における標的分子の構造変化や、薬剤の標的以外の分子との相互作用が原因。
→ 細胞内の環境を模倣した分子クラウド環境が試験管内で構築され、ある程度細胞内の環境効果を知ることができたが、試験管内の分子クラウド環境効果が、細胞内での現象と必ずしも一致しない。
(細胞内は複雑であるため、薬剤の効能を最適化する相互作用パラメータを算出できない)

SARS-CoV-2中のG-四重らせん構造を安定化させ
増幅を阻害する薬剤のスクリーニング



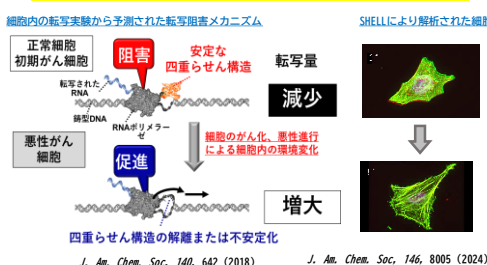
G-四重らせん構造を安定化させ複製を阻害する



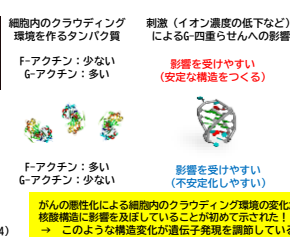
SARS-CoV-2の複製・増幅を阻害する化合物を選定できた。

新規性・優位性

がん進行過程における新規のG-四重らせん構造の役割を発見



SHELLにより解析された細胞内環境の違い



実用化によって期待される効果

核酸やタンパク質に結合する薬剤のスクリーニング

Myo遺伝子などのがんを活性化する遺伝子の発現阻害剤のスクリーニング
新型コロナウイルスや免疫不全ウイルスなどウイルスの複製阻害剤のスクリーニング
がんや細胞寿命に関わるテロメラーゼ阻害剤のスクリーニング
既存の薬剤の相互作用やメカニズム解析
核酸医薬品 (アンチセンス核酸、miRNA)、mRNAワクチンなどの配列の最適化
アプタマーの親和性解析また親和性を向上させる変異などの最適化
疾患のメカニズム解明
核酸の構造と疾患進行の関連性の解析

【特許】 核酸の立体構造を制御する方法及びその用途、並びに、細胞内分子クラウド環境を再現するための組成物 (特願2022-189538)、出願人: 学校法人甲南学園
【論文】 Development of a Pseudocellular System to Quantify Specific Interactions Determining the G-Quadruplex Function in Cells, *J. Am. Chem. Soc.*, 146, 8005 (2024), DOI: 10.1021/jacs.3c111
【キーワード】 細胞内環境効果、G-四重らせん、がん遺伝子、物理化学的解析、疑似細胞

教員の連絡先: tateishi@konan-u.ac.jp